Ueber den Einfluss

der

Mikroorganismen

auf die

Zersetzung organischer Substanzen im Erdboden.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

der

hohen medizinischen Fakultät der kgl. bayr. Universität Erlangen

vorgelegt

von

Louis Hirsch.

Erlangen.

Druck von Aug. Vollrath's k. b. Hofbuchdruckerei.

1891.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät.
Referent: Herr Professor Dr. Rosenthal.

Seinen teuren Eltern

in Liebe und Dankbarkeit

gewidmet

vom

Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41535709_0048

Die Erkenntnis, dass die Beschaffenheit des Erdbodens die Gesundheit der auf ihm wohnenden Menschen in hohem Grade beeinflusse, ist uralt, und es ist wunderbar, dass die wechselnden Beziehungen zwischen Boden und Hygiene wieder in Vergessenheit geraten konnten, obgleich sie schon in den ältesten Zeiten fast eine besondere Wissenschaft bildeten. Denn bereits Hippokrates, der grosse Weise und denkende Arzt, schreibt in seinem Werke „περὶ ἀέρων ὑδάτων τόπων“ vieles Bemerkenswerte über den Einfluss des Ortes auf die Gesundheit von Völkern und Städten; er erteilt den Ärzten den Rat, darauf zu achten, dass die Gründung von Städten nur an Orten mit gesunder Bodenbeschaffenheit geschehe; er warnt vor der Anlage von menschlichen Wohnungen an tief gelegenen und kalten Orten und empfiehlt dieselbe an Orten mit erhöhter, warmer Lage.

Doch auch schon vor Hippokrates war den civilisierten Griechen die gesunde Beschaffenheit des Ortes das erste Erfordernis bei Gründung von Kolonieen. Kranken Orten entstammen kranke Menschen, das galt als Thatsache und darum kam zu jener Zeit, als die Niederlassungen suchenden Völker noch mit einer gewissen Freiheit zwischen Orten verschiedener Lage wählen konnten, eine genaue Beobachtung dessen zur Geltung, welche hygienischen Eigenschaften einem zur Kolonisation ausersehenem Boden innewohnen müssten.

Zur Beurteilung dieser Frage bedienten sie sich, wie Frank*) mitteilt, verschiedener Umstände: „Da die Gesundheit lebendiger Geschöpfe einer Gegend von deren guten Anlage zeugen konnte, so wurden Tiere, welche man an einem solchen Orte erzogen hatte, geöffnet und besonders ihre Leber untersuchet. Fanden sie diese angegriffen, so gingen sie weiter und wählten einen andern Wohnsitz. Es war ferner schon bei den Alten ein Gesetz, dass ein ungesunder Wohnplatz (fundus pestilens) von dem Käufer wieder zurückgegeben werden möge und von dem Verkäufer wieder zurückgenommen werden müsse, indem der blosse Geruch oder die üble Ausdünstung eines unreinen Bodens dessen Bewohnung unmöglich machen können.“ Es würde zu weit führen, jene verschiedenen Theorieen der Alten über das Entstehen von Fieber und fieberhaften Krankheiten durch schlechte Bodenverhältnisse anzuführen, ihre Prophylaxe zu erwähnen bei Ausbrüchen von Epidemieen wie der Pest in Athen zur Zeit des Perikles; man kann aus dem Gesagten schon ersehen, dass die Bodenhygiene bei ihnen einen bedeutenden Einfluss auf ihre Wohnung, Kleidung, Nahrung, ihre Lebensweise und Erwerbsverhältnisse hatte.

Aber wie allen schönen Künsten und allen anderen Zweigen der Wissenschaft erging es auch der Hygiene bei dem Niedergang der Civilisation des Altertums. Jahrhunderte, vielleicht ein Jahrtausend wurde auf die Pflege der Gesundheit durch Berücksichtigung der Bodenverhältnisse kein Wert gelegt, und man begann sich erst dann wieder mit der hygienischen Bedeutung des Bodens zu befassen, als durch epidemisches und endemisches Auftreten von fieberhaften Krankheiten bei Gründung neuer Städte, nämlich bei der Kolonisation Indiens und Amerikas, die Schädlichkeiten gewisser Bodenverhältnisse geradezu ins Auge fielen. Man hat zu jener Zeit sogar schon Theorieen aufgestellt über die

*) Frank: System einer vollständigen medizinischen Polizey Bd. III 1887, S. 782.

Art der Schädlichkeiten, man dachte auch zu jener Zeit schon an kleine Lebewesen, welche im Schlamme der Sümpfe gedeihen, auffliegen, eingeatmet werden und die Krankheit hervorrufen. Andere leiteten die Schädlichkeiten aus unbekannten, im Innern des Bodens sich abspielenden Zersetzungsprozessen ab, deren Erzeugnisse in die freie Luft gelangen und diese infizieren.

Und wieder wurde diese Theorie verlassen, als am Anfang dieses Jahrhunderts durch die Chemie, Physiologie und vor allem durch die Pathologie eine neue Art der Erforschung der Krankheiten begann. Man glaubte die Natur aller Krankheiten am Seziertische oder unter dem Mikroskope erkennen zu können, und man entfremdete sich wiederum dem Gedanken, dass eine stattliche Anzahl von Krankheiten unter dem Einflusse einer ausserhalb des menschlichen Körpers, ausserhalb seiner Gewebsbestandteile gelegenen Krankheitsursache unter dem Einfluss des Bodens steht, welche ihr Entstehen behindert oder befördert.

Pettenkofer war es vorbehalten, die Bodentheorie auf den verdienten Rang zu erheben, indem er in seinem Werke: „Untersuchungen über Beobachtung und Verbreitungsart der Cholera im Jahre 1855“ nachwies, dass der Boden, wenn auch nicht allein, die regulierende Macht sei bei der epidemischen Entwickelung vieler Krankheiten. Nun war es die Aufgabe der Forscher für die bewiesenen Beziehungen zwischen Boden und Krankheit die richtige Erklärung zu geben. Es war jetzt die Frage zu entscheiden, auf welche Weise übt der Boden seinen Einfluss aus auf die Entstehung epidemischer Krankheiten. Die Lösung dieser Frage führte naturgemäss zur Lösung der Vorfrage über die Zersetzungsprozesse im Erdboden. Und da man fand, dass die Mikroorganismen einen bedeutenden Einfluss auf die Zersetzungsvorgänge im Erdboden haben, wurden eingehende Studien gemacht über die Arten derselben, deren Thätigkeit, Lebenseigenschaften u. s. w. Und wenn es bisher auch noch nicht gelungen ist, hierüber vollkommenen Aufschluss zu geben, so

stimmen doch alle Gelehrten darin überein, dass der Boden den Hauptsammelplatz der Mikroorganismen bildet, wohin sie mit den tierischen und pflanzlichen Abfallstoffen gelangen, und es ist leicht erklärlich, dass sie von hier durch die Luftbewegungen im Boden und von der Bodenoberfläche zur Atmosphäre geführt werden und um so mehr, je besser die Bedingungen für die Luftbewegung des Bodens sind, d. h. je grösser und stärker die Schwankungen des atmosphärischen Druckes, die Temperaturdifferenzen, die Windströmungen sind.

Nachdem nun also erkannt worden war, dass der Boden der Hauptsammelplatz der Mikroorganismen sei, fragte es sich, worin denn deren Thätigkeit im Erdboden bestehe.

Wir wissen, dass der Boden gewisse Stoffe begierig aufsaugt, dass dieses Absorptionsvermögen stark genug ist, um gewisse chemische Verbindungen zu zersetzen. Gelangen zum Beispiel Kali und Ammoniak an eine Säure gebunden, Schwefelsäure oder Salpetersäure, in den Boden, so werden diese Verbindungen hier zersetzt. Die Säuren gehen eine neue Verbindung mit Kalk oder Magnesia ein, während Kali und Ammoniak vom Boden absorbiert werden. Dasselbe Schicksal erfahren organische Substanzen, eine Thatsache, die schon im Jahre 1836 von Bronner entdeckt, später von Liebig besonders beschrieben wurde.

Das Hauptprodukt der Zersetzung organischer Substanzen im Erdboden ist die Kohlensäure, welche hier in bedeutend reicherem Maasse vorhanden ist, als in der atmosphärischen Luft. Während nämlich hier der Prozentgehalt 0,04 kaum überschreitet, kann er im Erdboden wie v. Fodor in Pest nachgewiesen hat, 14% übersteigen.

Allerdings finden sich auch hierbei erhebliche Schwankungen, welche sowohl vom Orte als von der Zeit abhängen. So ist im Winter der Kohlensäuregehalt des Bodens geringer als im Sommer; es sei denn, dass eine dichte Schneemasse die Oberfläche bedeckt, wodurch das Entweichen der Kohlensäure gehindert wird. Ferner ist konstatiert, dass in den ober-

flächlichen Erdschichten bis zu einer gewissen Tiefe der Befund der Kohlensäure um so reichlicher ist, je tiefer die zu untersuchende Luft entnommen ist.

Woher stammt nun der Reichtum des Bodens an Kohlensäure? Dem Grundwasser kann er nicht entstammen, da, wie sich gezeigt hat, das in den Boden einsickernde Regenwasser einen geringen Kohlensäuregehalt zeigt und erst in der Tiefe kohlensäurereicher wird. Es hat sich ferner gezeigt, dass der an organischen Substanzen arme libysche Wüstenboden einen Kohlensäuregehalt von nur etwa 1% erreicht.

Schon hieraus kann man den Schluss ziehen, dass die Bildung von Kohlensäure im Erdboden durch einen Oxydationsprozess bedingt sein muss. Es ist weiter konstatiert, dass, wie eine einfache Berechnung ergiebt, der Sauerstoff der organischen Substanzen zur Oxydation des Kohlenstoffs nicht ausreichen würde, und ferner besteht die Thatsache, dass die Bodenluft in dem Maasse an Sauerstoff verliert, je kohlensäurereicher sie wird, ohne dass dadurch das Gesammtvolumen der Kohlensäure und des Sauerstoffs geändert wird.

Wenn man diese Thatsachen im Auge behält, kommt man zu dem Schlusse, dass der Oxydationsprozess im Erdboden kein rein chemischer Prozess sein kann. Und es haben Schlösing und Müntz zuerst nachgewiesen, dass Mikroorganismen die Zersetzungsvorgänge im Erdboden beeinflussen, indem sie zeigten, dass die Oxydation des Ammoniaks zu Salpetersäure durch die Anwesenheit und Thätigkeit der Mikroorganismen bedingt ist. Sie behandelten nämlich Erde, von der sie wussten, dass sie aus organischen Substanzen reichlich Nitrate produziere, mit fäulniss-hemmenden Substanzen, zunächst durch Hineinblasen von Chloroformdämpfen, dann begossen sie die Erde mit Spüljauche, und es zeigte sich in Folge der Tötung der Mikroorganismen in dem abfliessenden Wasser Ammoniak in grosser Menge, dagegen nur Spuren von Nitraten und Nitriten. Dasselbe Resultat fanden

sie, wenn sie anstatt mit Chloroformdämpfen die Mikroorganismen durch Hitze töteten.

Auf demselben Prinzipe beruhten dann die Versuche von Wollny, welcher den Beweis lieferte, dass die Oxydation des Kohlenstoffs ebenfalls eine Folge der Thätigkeit der Mikroorganismen sei.

Wollny suchte die Mikroorganismen zu töten durch Anwendung von Chloroformdämpfen, durch Erhitzen bis 115°, durch Karbolsäure, Borsäure, Thymol und Benzol und fand als Resultat, dass die Kohlensäureproduktion bei Anwesenheit von Mikroorganismen eine viel bedeutendere sei, als nach deren Vernichtung. Es ist Wollny indessen nicht gelungen, die Entwickelung der Kohlensäure nach Abschluss der Mikroorganismen gänzlich aufhören zu lassen.

Ausfürlichere Arbeiten wurden u. a. neuerdings im hiesigen physiologischen Institut ausgeführt von Kraus*). Kraus wählte als Substrat seiner Versuche Gartenerde, Kohle und Glaspulver, welche er in Blechgefässen entweder vollkommen sterilisierte, oder teilweise sterilisierte oder endlich überhaupt nicht sterilisierte. Diese Substrate behandelte er mit Citronensäure, Weinsäure und deren Salzen und liess durch die Gefässe einen Strom kohlensäurefreier Luft hindurchgehen. Und als Resultat seiner Versuche fand er, dass organische Verbindungen, welche bei Anwesenheit von Mikroorganismen dem Sauerstoff der Luft ausgesetzt waren, in verhältnissmässig kurzer Zeit oxydirt werden, dass sich dieser Oxydationsprozess verlangsamt bei teilweiser Sterilisirung, dass er indessen ganz aufhört bei völligem Abschluss der Mikroorganismen.

Im Anschluss an diese Arbeit habe ich durch einige Versuche dieselbe Frage geprüft, indem ich zunächst Kontrollversuche mit der Citronensäure anstellte, dann aber die Substrate mit Traubenzucker, Harnstoff und Harn tränkte. Ich

*) Kraus, Beiträge zur Kenntniss der Oxydationsvorgänge im Erdboden. Erlangen 1888.

glaubte aber im Gegensatz zu Kraus von einer teilweisen Sterilisierung nicht sprechen zu dürfen, indem ich von der Voraussetzung ausging, dass ich positive Resultate nur erhalten könnte, wenn ich die Mikroorganismen vollständig durch strömenden Wasserdampf oder besser durch Erhitzen der Gefässe bis 160° tötete, oder wenn ich sie ungestört wirken liesse. Durch unvollständige Sterilisierung tötet man nur einen kleinen Teil der Mikroorganismen oder stört dadurch nur ihre Lebensentfaltung, aber auch nur so lange, als die Hitze oder andere sie schädigende Momente einwirken. Ausserdem ist zu bedenken, dass bei dem schnellen Wachstum und bei der Vermehrungsfähigkeit der Mikroorganismen am zweiten oder dritten Tage die neue Kultur herangezogen und thätig wäre. Deshalb bin ich bei meinen Versuchen in der Weise vorgegangen, dass ich zwei gleichartige Substrate z. B. Gartenerde mit der gleichen Menge einer organischen Verbindung behandelte, das eine Mal sterilisierte, das andere Mal aber die Mikroorganismen ungestört wirken liess. Und zwar verfuhr ich folgendermassen:

Ich füllte eine Flasche von etwa ein Liter Inhalt (Blech- oder Glasflasche) mit Erde oder Kohle, verkorkte dieselbe ganz fest, sodass die äussere Luft abgeschlossen war, und leitete durch diese Flasche (wozu, wie ich nebenbei bemerken will, Glasflaschen des besseren Verschlusses wegen geeigneter sind als Blechflaschen), einen Luftstrom, dessen Kohlensäure in zwei mit Kalilauge gefüllten Vorlagen und in einem mit kaligetränkten Bimssteinstücken gefüllten Thurme gänzlich absorbiert war. Diese Flasche stand auf der anderen Seite in Verbindung mit einer Pettenkofer'schen Röhre, welche mit einer bestimmten Menge Baryt gefüllt war. Die anderen Flaschen, welche die beigegebene Zeichnung enthält, waren teils Sicherheitsflaschen, um die eventuell bei ungleichmässiger Wirkung der Saugpumpe zurücksteigende Flüssigkeit aufzufangen, teils Regulatoren, um die Luft nicht zu schnell hindurchtreten zu lassen.

Wollte ich bei meinen Versuchen die Einwirkung der

Mikroorganismen ausschliessen, so bediente ich mich keiner chemischen Agentien, sondern wandte in allen Fällen eine Temperatur von 160°—190° an, wodurch, wie ich sicher annehmen konnte, die Mikroorganismen getötet waren. Die wässerigen Lösungen der zu prüfenden organischen Verbindungen und die nötigen Röhren, Schläuche, Flaschen u. s. w., die ich zum Einfüllen der Flüssigkeit gebrauchte, sterilisierte ich durch strömenden Wasserdampf, der, wie Koch gezeigt hat, die zur Tötung der Sporen nötige Temperatur zu erzeugen im Stande ist.

Wenn ich nun unter strengsten Kautelen in der geschilderten Weise vorgegangen war, wurde die Pettenkofer'sche Röhre mit einer bestimmten Menge Baryt gefüllt, an dessen Trübung eine Bildung von Kohlensäure sichtbar werden sollte.

Die Absorption der Kohlensäure geschah durch eine kalt gesättigte Lösung von Barythydrat, und die Bestimmung der darin bei jedem einzelnen Versuche absorbierten Kohlensäure wurde durch Oxalsäure von bekanntem Gehalt ausgeführt. Wie Flügge für die quantitative Bestimmung der Kohlensäure in der Atmosphäre und der Grundluft angegeben hat, ist es zweckmässig, die Oxalsäure so zu wählen, dass jeder ccm einem Milligramm CO_2 entspricht. Da ich beträchtliche Mengen Kohlensäure bei einigen Versuchen zu erwarten hatte, wählte ich, wie dies Kraus auch schon gethan hat, eine 10fach stärkere Oxalsäure, d. h. eine solche, von der 1 ccm einem Centigramm Kohlensäure entsprach. Ich bereitete mir mit einem Male von der Barytlösung ein solches Quantum, welches für die ganze Reihe meiner Versuche genügen musste, und bewahrte die Lösung in einer Flasche auf, welche mit einem Heberrohr versehen und gegen den Zutritt der atmosphärischen Kohlensäure durch ein mit Ätznatron gefülltes U-förmiges Rohr geschützt wurde. Ich bestimmte von Zeit zu Zeit den Titer des Baryts gegen Oxalsäure. Der Anfangstiter der Barytlösung, auf 50 ccm bestimmt, war 28,0. Bei meinen Versuchen habe ich, um auf meinen

Anfangstiter den Endtiter umrechnen zu können, stets 50 ccm der zum Versuch gebrauchten Barytlösung titriert. Die gefundene Differenz ergab alsdann die für 50 ccm Baryt in Anrechnung zu bringende Kohlensäure in Centigrammen. —

Die Oxalsäurelösung war hergestellt durch Auflösen von 28,635 gr. einer krystallisierten und bis zum konstanten Gewicht im Exsikkator getrockneten Oxalsäure. Als Indikator bei der Titration diente alkoholische Rosolsäurelösung.

I. Versuch.

Zu diesem Versuche benutzte ich Holzkohle, welche zunächst längere Zeit mit heissem Wasser ausgewaschen wurde, um sie von allen etwa daran haftenden organischen Substanzen zu befreien. Alsdann wurde sie im geschlossenen Eisentopf bis zur Rotglut erhitzt und in ein Blechgefäss gefüllt, letzteres gut verkorkt und verlackt, was bei Blechflaschen eine erhöhte Aufmerksamkeit verlangt, weil bei ihnen die Lötstellen leicht dem Druck des Stopfens nachgeben und so Luft hindurchlassen können. Diese Flasche wurde nun in den Sterilisierungskasten, einen doppelwandigen Schrank aus starkem Schwarzblech, gestellt und einer Temperatur von 160° etwa 3 Stunden hindurch ausgesetzt. Nun wurde die Flasche mit 3 gr. Citronensäure in wässeriger Lösung bei Anwendung strengster Kautelen beschickt und in die vorher zusammengestellte Kette der zum Versuche nötigen Apparate eingefügt, deren Anordnung aus der beigegebenen Zeichnung ersichtlich ist. Auf der einen Seite wurde die Flasche mit dem mit Bimsteinstückchen angefüllten Thurme, auf der andern Seite mit der Pettenkofer'schen Röhre verbunden. Damit die Luft in möglichst kleinen Bläschen durch die Barytlösung hindurchgehe, kann man — nach Pettenkofer — sie durch ein kapillar ausgezogenes Glasrohr eintreten lassen. Besser wirkt folgendes von Rosenthal angegebene Ventil: Man streift über das im Stopfen der Pettenkofer'schen Röhre steckende kurze Glasrohr ein kurzes Stück Gummischlauch und verschliesst diesen nach unten durch

ein Zinkplättchen, in welches man einen kleinen Kanal eingefeilt hat. Diese Zinkventile haben sich bei meinen, teilweise sehr lange dauernden, Versuchen recht gut bewährt. — Die Barytfüllung der Pettenkofer'schen Röhre betrug 220 ccm. Der Versuch wurde 5 Tage hindurch ununterbrochen fortgesetzt, und es zeigte sich im Verlauf dieser Zeit keine Trübung des Baryts, wenigstens keine nachweisbare Abschwächung des Titers, vielmehr blieb nur die minimale Trübung bestehen, welche sich beim Einfüllen des Baryts in die Pettenkofer'sche Röhre durch die kurze Berührung mit der Atmosphäre bildet, ohne dass sie sich vermehrte. Das Resultat dieses Versuches lässt sich also dahin zusammenfassen, dass eine Zersetzung der organischen Substanz (Citronensäure) nach Tötung der Mikroorganismen in Zeit von 5 Tagen nicht stattfindet.

II. Versuch.

Zu diesem Versuche benutzte ich ein Gemisch von Gartenerde und Sand, welches ich ebenso wie die zum ersten Versuche benutzte Kohle ausgewaschen und bis zur Rotglut erhitzte, um es von allen störenden organischen Bestandteilen zu befreien. Die Erde wurde dann in ein Blechgefäss gethan, letzteres gut verstopft und bei 160° sterilisiert. Nachdem sie hierauf mit 3 gr. Citronensäure in 3prozentiger Lösung getränkt war, wurde sie in den Apparat eingeschaltet, 8 Tage lang wurde kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet, ohne dass sich auch nur die geringste Trübung in der Pettenkofer'schen Barytröhre zeigte, woraus hervorgeht, dass eine Zersetzung der Citronensäure auch bei diesem Substrat (Erde) in dieser Zeit nicht eintritt.

III. Versuch.

Diese Gartenerde, welche in der fest verstopften Flasche geblieben, also immer noch sterilisiert war, wurde getränkt mit 1 ccm fauler Eiweisslösung, welche mit 100 Teilen Wasser

verdünnt war. Den so hineingebrachten Mikroorganismen wurde Gelegenheit gegeben sich zu entfalten; und schon einige Stunden nach Einstellung des Substrats in den Apparat zeigte sich im Baryt eine starke Trübung und ein fester Niederschlag, der täglich zunahm, sodass der Versuch schon am 4. Tage abgebrochen wurde. Bei der Titration verfuhr ich folgendermassen. Wie oben bemerkt, war als Anfangstiter 28,0 für 50 ccm der angestellten Barytlösung gefunden worden. Es wurden bei dem zu diesem Versuche gebrauchten Baryt nur verbraucht 20 ccm Oxalsäure. Die Differenz beträgt also 8, dies ist gleich 8 cgr. Kohlensäure auf 50 ccm Baryt. 220 ccm habe ich bei dem Versuche gebraucht; es ergiebt sich also

$$\frac{8 \,.\, 0{,}01 \,.\, 220}{50} = 0{,}352 \text{ gr. } CO_2$$

Es haben sich also nach viertägiger Einwirkung der Mikroorganismen auf die organische Substanz 0,352 gr. Kohlensäure entwickelt.

Ich habe bei meinen späteren Versuchen immer dieselbe Rechnung ausgeführt, weswegen ich sie später auch nicht mehr genauer angeben werde.

IV. Versuch.

Auch zu diesem Versuche wurde ein Gemisch von Gartenerde und Sand genommen, gründlich mit heissem Wasser ausgewaschen und geglüht. Die Erde wurde dann ausgebreitet, damit die Mikroorganismen sich darauf ansiedeln könnten. Nach 2 Tagen wurde das Gemisch in eine Flasche gefüllt und in den Apparat eingefügt, nachdem letztere vorher ebenfalls gut verstopft worden war, sodass man sicher sein konnte, dass die atmosphärische Kohlensäure nicht hineingelangen könne. Nun wurde so lange kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet, bis die vorher in der Flasche enthaltene Kohlensäure, gänzlich verdrängt war, was sich an dem Klarbleiben des Baryts in der Pettenkofer'schen Röhre zeigte. Jetzt wurde die Erde

mit 3 gr. Citronensäure in dreiprozentiger Lösung getränkt und die Pettenkofer'sche Röhre mit 176 ccm Baryt gefüllt. Auch hier zeigte sich schon nach einem Tage eine beträchtliche und täglich sich mehrende Trübung. Die Titration ergab den Titer 18,0.

50 ccm Barytlösung, brauchten 18 ccm Oxalsäure, 50 ccm der ursprünglichen Barytlösung brauchten 28.0 ccm Oxalsäure. Somit betrug die Kohlensäure 0,352 gr. Auch dieses Resultat zeigt, dass bei Anwesenheit von Mikroorganismen die Zersetzung organischer Substanzen in verhältnismässig kurzer Zeit erfolgt.

Wenn man den in den bisherigen Versuchen eingetretenen Zerfall der Citronensäure in derselben Weise deutet, wie dies Kraus gethan hat, würde man aus dieser Menge Citronensäure (3 gr.) 1,8843 gr. Kohlensäure erwarten können. Bei Versuch 1 und 2 fand sich gar keine, bei Versuch 3 und 4 ca. $^1/_5$ der zu erwartenden Menge.

Die mit der Citronensäure ausgeführten Versuche lassen sich tabellarisch folgendermassen zusammenstellen:

Versuch	Substrat und Beschickung	100 Teile $C_6 H_8 O_7 + H_2 O$ enthalten: Kohlenstoff C α	enthalten: leicht oxyd. Kohlenstoff C β	können ergeben: (CO_2) α	haben ergeben: (CO_2) β	$\frac{(CO_2)\ \beta}{(CO_2)\ \alpha} \cdot 100$
1.	Kohle, sterilisiert + 3 gr. Citronensäure	34,26	17,13	62,81	0,0	—
2.	Gartenerde, steril. + 3 gr. Citronensäure	34,26	17,13	62,81	0,0	—
3.	Gartenerde + 3 gr. Citronensäure + faule Eiweisslösung	34,26	17,13	62,81	11,73	18,68
4.	Gartenerde unsteril. und 3 gr. Citronensäure	34,26	17,13	62,81	11,73	18,68

Nachdem ich die Versuche mit Citronensäure, wie sie von Kraus gemacht worden waren, wiederholt hatte, nur unter Anwendung grösserer Kautelen, kann ich das Resultat dieser Versuche dahin zusammenfassen, dass ich ebenso wie Kraus bei Anwesenheit von Mikroorganismen eine ziemlich beträchtliche Kohlensäurebildung fand, während ich nach Abschluss der Mikroorganismen eine Kohlensäurebildung nicht eintreten sah. Ich wandte mich jetzt zu den Versuchen mit Traubenzucker.

V. Versuch.

Die zu den vorigen Versuchen gebrauchte Holzkohle wurde, um sie von der Citronensäure zu befreien, in heissem Wasser gewaschen, dann bis zur Rothglut erhitzt. Die Kohle wurde sodann in ein Glasgefäss gefüllt, letzteres fest verstopft und bei 170° sterilisiert. Nachdem sie mit 3 gr. Traubenzucker in 3-prozentiger Lösung unter strengsten Kautelen getränkt war, wurde sie in den Apparat eingeschaltet und 8 Tage lang kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet. Es zeigte sich nach dieser Zeit nicht die geringste Trübung des Baryts, sodass wir auch hier sagen können, dass eine Oxydation der organischen Substanz (Traubenzucker) bei Abschluss der Mikroorganismen in kurzer Zeit nicht stattfindet.

VI. Versuch.

Zu diesem Versuche wurde Gartenerde ebenso behandelt wie in früheren Versuchen, gewaschen, geglüht, in eine Blechflasche gefüllt, dann 2 mal sterilisiert bei 160°. Die Erde wurde getränkt mit 3 gr. Traubenzucker in dreiprozentiger Lösung und 8 Tage lang dem Sauerstoff der Luft ausgesetzt. Es zeigte sich nach dieser Zeit eine minimale Trübung. Die

Titration ergab die Bildung von 0,00176 gr. Kohlensäure, ein Resultat, welches vielleicht in der Undichtigkeit des Blechgefässes seine Erklärung findet.

VII. Versuch.

Mit heissem Wasser gewaschene, dann geglühte Gartenerde wurde $1^1/_2$ Tage ausgebreitet, darauf in eine Glasflasche gefüllt, letztere gut verschlossen, damit die atmosphärische Kohlensäure nicht hineingelangen sollte. Um die darin befindliche Kohlensäure hinauszudrängen, wurde die Flasche in die Apparatenkette eingefügt und so lange kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet, bis sich keine Trübung mehr in dem vorgelegten Barytwasser zeigte. Jetzt wurde die Erde getränkt mit 3 gr. Traubenzucker in dreiprozentiger Lösung, die Pettenkofer'sche Röhre mit 180 ccm Baryt gefüllt und der Apparat in Gang gesetzt. Es zeigte sich aber nach 2 Tagen eine nur minimale Trübung, und da der Apparat in einem winterkalten Raume stand, vermutete ich, dass die Mikroorganismen vielleicht durch die niedrige Temperatur von 5—6° C. an ihrer Lebensentfaltung gehindert worden seien. Ich stellte deshalb den Apparat in ein anderes, geheiztes Zimmer, füllte die Flasche noch einmal mit derselben Menge Traubenzucker und fügte ausserdem noch $^1/_2$ ccm faule Eiweisslösung in 150 ccm Wasser hinzu. Schon nach einigen Stunden zeigte sich ein deutlicher Niederschlag. Nachdem der Apparat 3 Tage nur funktioniert hatte, ergab die Titration die Bildung von 0,725 gr. Kohlensäure. Es zeigte sich, wie schnell und energisch die zur Lebensentfaltung gelangten Mikroorganismen die Oxydation des Traubenzuckers bewirken können.

VIII. Versuch.

Gartenerde wurde, nachdem sie ebenso wie in früheren Versuchen gewaschen und geglüht worden war, 2 Tage ausgebreitet und dadurch den Mikroorganismen der Luft aus-

gesetzt. Darauf wurde sie in den Apparat eingeschaltet und so lange kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet, bis sich keine Trübung in der vorgelegten Pettenkofer'schen Barytröhre mehr zeigte. Dann wurde die Erde mit 3 gr. Traubenzucker in Lösung getränkt und die Barytröhre mit 180 ccm Baryt gefüllt. Schon am ersten Tage nach Einstellung der Flasche in den Apparat zeigte sich eine bedeutende Trübung, die stetig zunahm und am 6. Tage durch Titration die Bildung von 0,54 gr. CO_2 ergab.

Auch bei den Versuchen mit Traubenzucker hat sich also gezeigt, dass eine Zersetzung desselben eintritt in sehr kurzer Zeit bei ungehindertem Einflusse der Mikroorganismen, dass sie jedoch in kurzer Zeit nicht eintritt bei Abschluss derselben.

In welcher Weise bei den Versuchen 5, 6, 7, 8 das Molekül des Traubenzuckers gespalten wurde, konnte ich begreiflicher Weise nicht entscheiden. Wenn man aber annimmt, was ja sehr nahe liegt, dass die Zersetzung etwa in dem Sinne der bei der geistigen Gährung des Zuckers eintretenden Spaltung erfolgt sei, so würde 1 Mol. $C_6 H_{12} O_6$ 2 Mol. CO_2 ergeben, oder wenn wir das Molekulargewicht berechnen,

$$180 \text{ Teile } C_6 H_{12} O_6 \quad 88 \text{ Teile } CO_2$$
$$3 \text{ Teile } \quad „ \quad \frac{88 \times 3}{180} = 1{,}46 \; CO_2.$$

Es haben mithin geliefert Versuch 7 etwa $^1/_2$, Versuch 8 etwa $^1/_3$ der zu erwartenden Kohlensäure. Eine tabellarische Übersicht der Versuche liesse sich so aufstellen, wie es auf folgender Seite geschehen ist.

Ich wende mich nun zur Beschreibung der mit Harnstoff angestellten Versuche.

Versuch	Substrat und Beschickung	100 Teile $C_6 H_{12} O_6$ enthalten: Kohlenstoff C α	leicht oxyd. Kohlenstoff C β	können ergeben: (CO_2) α	haben ergeben: (CO_2) β	$\frac{(CO_2)\ \alpha}{(CO_2)\ \beta} \cdot 100$
5	Holzkohle, Gartenerde, sterilisiert + 3 gr. Traubenzucker	40	13,33	48,87	0,0	—
6	Gartenerde, sterilisiert + 3 gr. Traubenzucker	40	13,33	48,87	0,0586%	0,11
7	Gartenerde, unsterilis. + 6 gr. Traubenzucker + $^1/_2$ ccm faule Eiweisslösung.	40	13,33	48,87	12,08%	24,71
8	Gartenerde, unsterilis. + 3 gr. Traubenzucker	40	13,33	48,87	18%	36,83

IX. Versuch.

Holzkohle wurde gewaschen in siedendem Wasser, um sie von störenden Verunreinigungen möglichst zu befreien, dann ausgeglüht bis zur Rotglut, in eine Blechflasche gefüllt und bei 180° sterilisiert, wodurch sicherlich eine vollkommene Sterilisierung bewirkt war. Die Flasche wurde hierauf unter den erforderlichen Kautelen mit 3 gr. Harnstoff in dreiprozentiger Lösung beschickt und 8 Tage lang kohlensäurefreie Luft hindurchgeleitet. Nach dieser Zeit zeigte sich eine Trübung und ein mässiger Niederschlag, und die Titration ergab die Anwesenheit von 0,096 gr. Kohlensäure.

Dieses Resultat, welches so erheblich abweicht von den anderen, bei denen ebenfalls die Sterilisierung genau vorgenommen worden war, findet seinen Grund jedenfalls in der Anwendung einer Blechflasche, welche unter dem starken Erhitzen leidet, und eine strenge Kontrolle über Dichtigkeit nicht so zulässt wie Glasflaschen. Ich habe deshalb von jetzt ab die Anwendung von Blechgefässen gänzlich aufgegeben, zumal da es sich gezeigt hat, dass man die Glasgefässe ohne Gefahr bis 190° erhitzen kann, wenn man sie anfangs vorsichtig bis 100° ca. erwärmt hat. — Es kommt noch ein zweites Moment hinzu, welches dieses so sehr von den anderen abweichende Resultat erklärt. Die Barytlösung war in einem ziemlich warmen Zimmer aufbewahrt, während der Versuch in einem mässig kalten Raume angestellt worden war. Es zeigten sich darum in der Pettenkofer'schen Röhre Krystalle von Barythydrat, ein Beweis dafür, dass die Barytlösung durch die niedrige Temperatur etwas schwächer geworden war. Es lässt sich das Ergebnis dieses Versuches also dahin zusammenfassen, dass in Folge der Undichtigkeit des Blechgefässes eine geringe Kohlensäurebildung eingetreten war.

X. Versuch.

Ein Gemisch von Gartenerde und Sand wurde mit heissem Wasser mehrere Male ausgewaschen, darauf bis zur

Rotglut erhitzt und in ein Glasgefäss gefüllt. Dieses wurde gut verkorkt und bis zu 170° im Sterilisierungskasten erwärmt, wodurch eine sichere Abtötung der Mikroorganismen erzielt ist. Die Flasche wurde nun getränkt mit 3 gr. Harnstoff in wässeriger Lösung und in den Apparat eingeschaltet. Die Pettenkofer'sche Röhre wurde mit 220 ccm Baryt gefüllt. Nachdem der Apparat 8 Tage funktioniert hatte, war noch keine Trübung des Baryts eingetreten. Es ist also auch hier wieder der Beweis geliefert, dass die Zersetzung organischer Substanzen bei Abschluss der Mikroorganismen in kurzer Zeit wenigstens nicht stattfindet.

XI. Versuch.

Ein Gemisch von Sand und Gartenerde wurde in heissem Wasser gewaschen, im eisernen Topfe bis zur Rotglut erhitzt und dann durch Ausbreiten 2 Tage lang den Mikroorganismen der Luft preisgegeben. Nach dieser Zeit wurde die Erde in ein Glasgefäss gefüllt und erst, als sich beim Durchleiten von Luft keine Kohlensäure mehr in dem vorgelegten Baryt zeigte, mit 3 gr. Harnstoff in wässeriger Lösung getränkt. Vom ersten Tage an zeigte sich eine erhebliche Trübung und ein mässiger Niederschlag, der täglich stärker wurde. Nachdem der Apparat 6 Tage funktioniert hatte, wurde der Versuch abgebrochen. Die Titration ergab die Bildung von 0,368 gr. Kohlensäure.

Damit wir uns ein Urteil bilden können über die Harnstoffzersetzung, müssen wir folgendermassen rechnen.

Aus 1 Molekül CO $(N H_2)_2$ kann 1 Molekül CO_2 entstehen, d. h. aus 60 gr. CO $(N H_2)_2$ 44 gr. CO_2. Also ist beim Zerfall von 3 gr. Harnstoff die Bildung von höchstens

$$\frac{3 \times 44}{60} = 2{,}2 \text{ gr. } CO_2$$

zu erwarten. Gefunden wurden in den einzelnen Versuchen die in folgender Tabelle zusammengestellten Werte.

Versuch	Substrat und Beschickung	100 Teile Harnstoff $CO(NH_2)_2$ enthalten: Kohlenstoff C α	enthalten: leicht oxyd. Kohlenstoff C β	können ergeben: (CO_2) α	haben ergeben: (CO_2) β	$\frac{(CO_2)\,\beta}{(CO_2)\,\alpha} \cdot 100$
9	Holzkohle, sterilisiert + 3 gr. Harnstoff	20	—	73,33	3,2%	4,36
10	Gartenerde, sterilisiert + 3 gr. Harnstoff	20	—	73,33	0	—
11	Gartenerde, unsterilis. + 3 gr. Harnstoff	20	—	73,33	12,26%	16,72

XII. Versuch.

Ich begann jetzt die Versuche mit Harn. Als Substrat beim ersten Versuch diente mir Gartenerde, welche in heissem Wasser ausgewaschen, dann bis zur Rotglut erhitzt worden war. Die Gartenerde wurde darauf in ein Glasgefäss gefüllt und bei 160° sterilisiert. Nunmehr wurde die Flasche beschickt mit 150 gr. eines eiweiss- und zuckerfreien Harnes und in den Apparat eingeschaltet. Nach 8 Tagen zeigte sich noch keine Trübung des Baryts in der Pettenkofer'schen Röhre. Eine Zersetzung des Harnes war also in dieser Zeit nicht eingetreten.

XIII. Versuch.

Da bei dem vorigen Versuche eine, wenn auch nur geringe, Trübung des Baryts erwartet worden war, wurde ein Kontrollversuch mit frischem ausgekochten Harn unter denselben Bedingungen genau dem vorigen entsprechend angestellt. Auch bei diesem Versuche zeigte sich nach 10 Tagen keine Trübung des Baryts.

XIV. Versuch.

Das Gemisch von Gartenerde und Sand wurde nun ausgewaschen, bis zur Rotglut erhitzt und in einem mässig warmen Zimmer ausgebreitet. Nach 2 Tagen wurde es in ein Glasgefäss gefüllt, in den Apparat eingeschaltet und kohlensäurefreie Luft so lange hindurchgeleitet, bis sich keine Trübung mehr in dem vorgelegten Barytwasser zeigte. Dann wurde die Flasche mit 150 gr. Harn gefüllt, und der Apparat in Gang gesetzt. Es zeigte sich sehr bald eine bedeutende Trübung und ein dicker Niederschlag. Die Titration ergab, nachdem der Apparat 5 Tage funktioniert hatte, die Bildung von 0,374 gr. Kohlensäure.

XV. Versuch.

Holzkohle wurde mit heissem Wasser gewaschen, bis zur Rotglut erhitzt und in einem Glasgefässe von $1^1/_2$ Liter Inhalt bei 180° sterilisiert. Die Kohle wurde dann beschickt mit 150 gr. eiweiss- und zuckerfreien Harnes und in den Apparat eingefügt. Nach 7 Tagen blieb das vorgelegte Barytwasser noch vollkommen klar, sodass wir auch hier sahen, dass eine Zersetzung des Harnes bei Abschluss der Mikroorganismen in kurzer Zeit nicht stattfand.

Für die Menge der bei der Harnzersetzung gebildeten Kohlensäure ist im wesentlichen der Harnstoff desselben bestimmend. Die anderen kohlenstoffhaltigen Substanzen, welche im Harne vorkommen, sind in so geringer Menge vorhanden, dass ich glaube, sie bei der Beurteilung dieser Versuche vernachlässigen zu können. Ich habe den Harnstoffgehalt des verwendeten Harnes nach der Liebig'schen Methode titrimetrisch bestimmt und den gefundenen Wert bei Berechnung der zu erwartenden Kohlensäure zu Grunde gelegt. Es kamen also, da der Harn 1,74 Prozent Harnstoff enthielt, 2,6 gr. Harnstoff in Anwendung. Daraus ergiebt sich für die Versuche mit Harn folgende tabellarische Übersicht. (Angewendet wurden bei allen Versuchen 150 gr. Harn von 1,74% Harnstoff).

Ein Vergleich der folgenden Tabelle mit der vorhergehenden zeigt, dass die aus Harnstoff und Harn gewonnenen Kohlensäuremengen bei gleicher Versuchszeit nahezu einander gleich sind.

Versuch	Substrat und Beschickung	150 ccm Harn mit einem Harnstoffgehalt von 1,74% enthalten: Kohlenstoff C α	leicht oxyd. Kohlenstoff C β	können ergeben: (CO_2) α	haben ergeben: (CO_2) β	$\frac{(CO_2)\ \beta}{(CO_2)\ \alpha} \cdot 100$
12	Gartenerde, sterilisiert + 2,6 gr. Harnstoff	20	—	73,33	0	—
13	Gartenerde, sterilisiert + 2,6 gr. Harnstoff	20	—	73,33	0	—
14	Gartenerde unsterilis. + 2,6 gr. Harnstoff	20	—	73,33	14,38%	19,61
15	Holzkohle, sterilisiert + 2,6 gr. Harnstoff	20	—	73,33	0	—

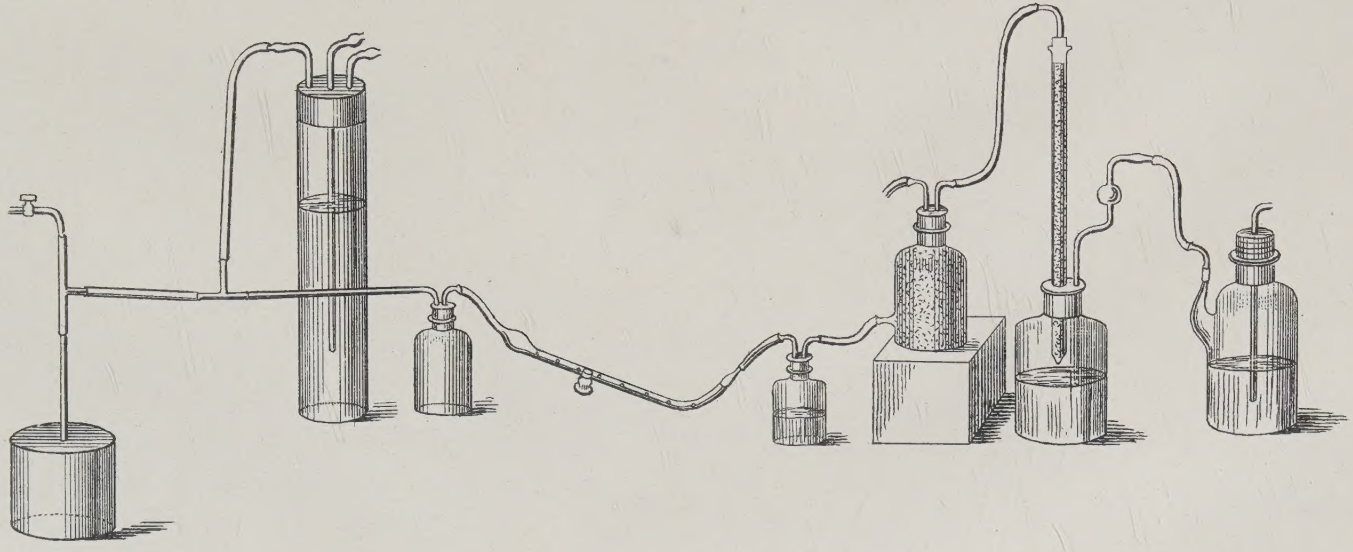
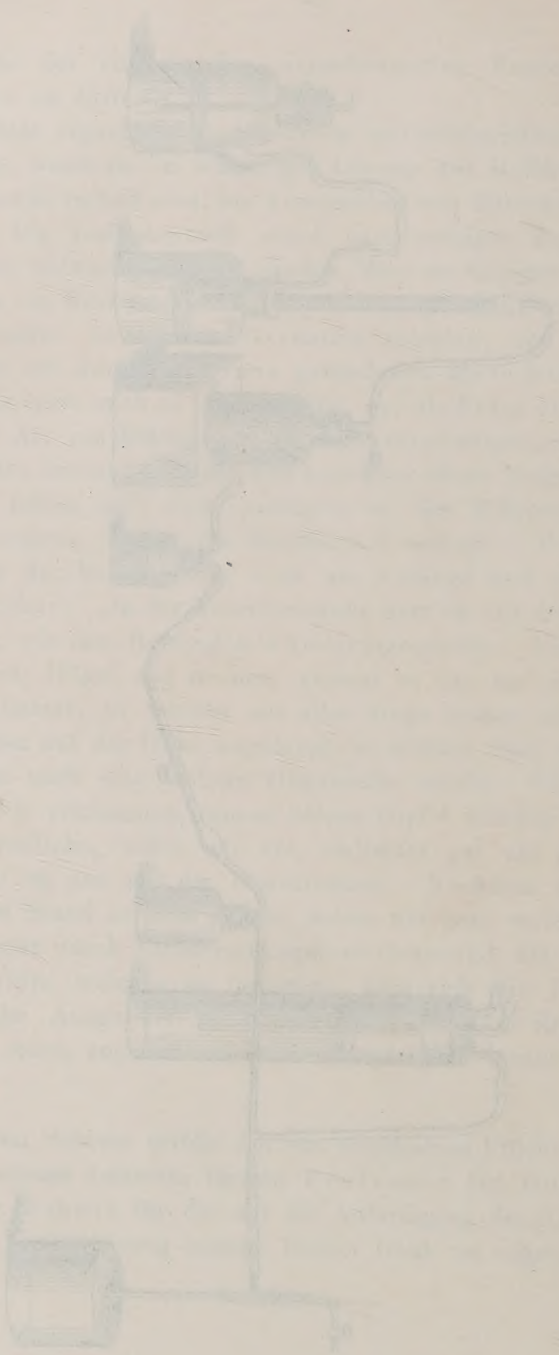
Um eine Übersicht über sämmtliche Versuche zu gewinnen, habe ich dieselben in der folgenden Tabelle so zusammnengestellt, dass ich jedes Mal das Substrat, die angewandte organische Substanz, die Dauer des Versuches, den in der organischen Substanz enthaltenen, den leicht oxydierbaren Kohlenstoff, die zu erwartende und die gebildete Kohlensäure, die vier letzten Werte auf 100 gr. der betreffenden Substanz berechnet, endlich das prozentische Resultat angebe.

Wenn ich nun die Schlussfolgerungen ziehe, so kann ich auf Grund der gefundenen Resultate zunächst konstatieren, dass die Anwesenheit von Mikroorganismen in den von mir gewählten Substraten (Kohle und Gartenerde) einen unverkennbaren Einfluss ausübt auf die Oxydation der organischen Substanzen. Sowohl bei den Versuchen mit Citronensäure und Zucker, als auch bei denen mit Harnstoff und Harn hat sich nach ganz kurzer Zeit bereits die Bildung von Kohlensäure in der Pettenkofer'schen Röhre gezeigt, während umgekehrt bei den Versuchen mit sterilisierten Substraten eine solche nicht eingetreten ist. Ich habe darauf verzichtet, die anderen Umsetzungen des Harnstoffs und Harnes zu verfolgen, was mich zu weit geführt haben würde; ausserdem sind bereits von anderer Seite Untersuchungen über die Bedeutung der Mikroorganismen für die Nitrifikation in Angriff genommen worden. Trotzdem aber auf den 8 zuverlässig sterilisierten Substraten eine Bildung von Kohlensäure nicht eingetreten ist, darf man nicht schliessen, dass eine solche im Erdboden überhaupt niemals eintreten würde. Es liesse sich diese Frage, ob eine Oxydation der organischen Substanzen bei Abschluss von Mikroorganismen nicht stattfinden würde, erst entscheiden, wenn man, wie schon Kraus hervorgehoben hat, die Versuche Jahre hindurch fortsetzte und wenn man die Erde, welche zu den Versuchen benutzt wird, denjenigen Einflüssen unterwürfe, denen sie in der Natur unterworfen ist, d. h. den Temperaturschwankungen während des Jahres, der Einwirkung des Lichtes, der Elektrizität u. s. w. So viel aber glaube ich an-

Versuch	Substrat	Organische Substanz	Kohlenstoff	leicht oxyd. Kohlenstoff	können ergeben (CO_2) α	haben ergeben (CO_2) β	$\frac{(CO_2)\beta}{(CO_2)\alpha} \times 100$	Dauer des Versuches
1	Kohle, steril.	Citronens. 3 gr.	34,26	17,13	62,81	0	0	5 Tage
2	Gartenerde, ster.	Citronens. 3 gr.	34,26	17,13	62,81	0	0	7 Tage
3	Gartenerde, unst.	Citronens 3 gr.	34,26	17,13	62,81	11,73	18,68	4 Tage
4	Gartenerde, unst.	Citronens. 3 gr.	34,26	17,13	62,81	11,73	18,68	4 Tage
5	Holzkohle, ster.	Traubenzuck. 3 gr.	40	13,33	48,87	0	0	8 Tage
6	Gartenerde, ster.	Traubenzuck. 6 gr.	40	13,33	48,87	0,058	0,11	8 Tage
7	Gartenorde, unst.	Traubenzuck. 3 gr.	40	13,33	48,87	12,08	24,71	3 Tage
8	Gartenerde, unst.	Traubenzuck.	40	13,33	48,87	18	36,83	6 Tage
9	Holzkohle, ster.	3 gr. Harnstoff 3 gr.	20	—	73,33	3,2	4,36	8 Tage
10	Gartenerde, ster.	Harnstoff 3 gr.	20	—	73,33	0	0	8 Tage
11	Gartenerde, unst.	Harnstoff 3 gr.	20	—	73,33	12,26	16,72	6 Tage
12	Gartenerde, ster.	150 gr. Harn m. 2,6 gr.	20	—	73,33	0	0	8 Tage
13	Gartenerde, ster.	Harnstoffgeh.	20	—	73,33	0	0	10 Tage
14	Gartenerde, unst.	„	20	—	73,33	14,38	19,61	5 Tage
15	Holzkohle, ster.	„	20	—	73,33	0	0	7 Tage

gesichts der vorstehenden experimentellen Ergebnisse behaupten zu dürfen:

dass organische stickstofffreie und stickstoffhaltige Substanzen, wenn sie in wässeriger Lösung auf Holzkohle oder Gartenerde verteilt sind, bei Anwesenheit von Mikroorganismen durch den Luftsauerstoff schon nach wenigen Tagen oder Wochen teilweise oxydiert werden, dass sie dagegen bei Ausschluss von Mikroorganismen unter sonst gleichen Bedingungen in kürzerer Zeit keine Oxydation erleiden; ein Resultat, welches mit dem von Kraus gefundenen übereinstimmt.

Es hätte mich zu weit geführt, auf die Frage einzugehen, welche Art von Mikroorganismen die Oxydationsvorgänge im Erdboden bewirkt. Es ist dies noch eine offene Frage, ebenso wie es bisher noch nicht gelungen ist, den Mikroorganismus nachzuweisen, welches die Nitrifikation bedingt. Wir stehen eben in der Bodentheorie noch am Anfange und mit Recht sagt Fodor: „in der Naturforschung geht es mit den meisten Fragen, wie dem Reisenden in Gebirgsgegenden. Von weitem sehen wir Hügel und meinen, gelingt es uns nur einmal sie zu erklimmen, so werden wir alles rings umher sehen. Ist man aber auf der Höhe angelangt, so erfährt man, dass sich dahinter noch eine höhere Hügelreihe erhebt. Auch diese haben wir erklommen, immer höhere Gipfel erheben sich bis ins Unendliche, wohin wir nie, vielleicht gar nie gelangen. So geht es uns mit der Bodentheorie. Nachdem wir ihren heutigen Stand erreicht haben, sehen wir erst, welche Fülle von Fragen durch Nachforschungen zu lösen sind, bis wir jene Naturkräfte, welches es bewirken, dass sich die Epidemie, diese alte Ausgeburt des Götterzornes vor dem Erdenstaub beugen muss, auch nur in ihren Hauptzügen werden erkannt haben."

Zum Schluss erfülle ich die angenehme Pflicht, meinen hochverehrten Lehrern, Herren Professor Dr. Rosenthal und Dr. Schulz für die mir bei Anfertigung der Arbeit gewährte Unterstützung meinen besten Dank zu sagen.